

THESIS

Göttingen
1946

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT
IN GÖTTINGEN

Die Retention von Methylviolett unter dem Einfluß von Strophanthin

am durchströmten Froschherzen und am ganzen Frosch im
Vergleich mit der Saponinwirkung

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen
vorgelegt im Frühjahr 1946 von

EDITH SCHNEIDER

Steinhagen in Westfalen

LANE MEDICAL LIBRARY
SAN FRANCISCO

LANE MEDICAL LIBRARY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF. 94304

Dekan: Professor Dr. Deuticke

Berichterstatter: Professor Dr. Frey

Tag der mündlichen Prüfung:

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT
IN GÖTTINGEN

Die Retention
von Methylviolett unter dem Einfluß
von Strophanthin

am durchströmten Froschherzen und am ganzen Frosch im
Vergleich mit der Saponinwirkung

von

EDITH SCHNEIDER

I. TEIL

Die Wirkung von Strophanthin K auf die Methylviolett-Ablagerung im Esculenten-Herzen

I. Einleitung

Fühner (1) injizierte Esculenten in den Oberschenkellymphsack Methylviolettlösung und beobachtete, daß von da aus zuerst dunkle Färbung am Unterschenkel auftritt, dann an der Hüftbeuge und Flanke derselben Seite. Die Färbung bleibt lange bestehen und auf eine Körperhälfte beschränkt; sie wird, abgesehen von der Innenseite des Oberschenkels, niemals intensiv an der zweiten Körperhälfte. Der Färbung entsprechen die pathologischen Erscheinungen. An den Stellen, an welche das Methylviolett in genügender Konzentration hingelangt, stirbt die Muskulatur ab. Ist die Substanz in ausreichender Menge im Herzen abgelagert, bringt sie dieses schließlich zum Stillstand mit Ausbildung einer systolischen Kontraktur. Während dieser Erscheinungen färbt sich die Ventrikelmuskulatur allmählich dunkelviolett.

Fühner injizierte Esculenten von 50 bis 70 Gramm Gewicht 2 ccm einer 0,2prozentigen Methylviolettlösung in den Oberschenkel. Bis zum Eintreten des Herzstillstandes konnte es 6 Stunden und länger dauern.

Injiziert man Kaninchen eine Lösung von Kristallviolett (0,5 Prozent in einer 0,9prozentigen Kochsalzlösung heiß, frisch bereitet), so sinkt der Blutdruck langsam bis zum Tode ab. Es bildet sich auch hier eine systolische Kontraktur des Herzens aus.

Schüttelt man Methylviolett mit Tierkohle, so wird der Farbstoff als oberflächenaktiver Stoff vollständig adsorbiert.

Einen ähnlichen Versuch am biologischen Objekt machte Fühner (2). Er ließ ein isoliertes Froschherz in $\frac{1}{2}$ ccm einer 0,005prozentigen oder 0,01prozentigen Lösung von Kristallviolett schlagen. Nach 5 bis 10 Minuten entfärbte sich die Lösung und das Herz färbte sich dunkel; der

Farbstoff war im Herzen gebunden. Mit schwachen Farbstofflösungen ließ sich der Versuch bis zum Eintritt des Herzstillstandes mehrfach wiederholen. Die Vergiftung zeigt sich in Abnahme der Hubhöhe und unvollständiger diastolischer Erschlaffung. Nach einem kurzen Stadium von Kammerflimmern tritt Herzstillstand in Mittelstellung ein.

Da die Saponine z. T. wenigstens (Tschésche (3)) Sterine sind und ebenfalls die Digitaliswirkung und eine oberflächenaktive Wirkung haben, habe ich Strophanthin, das den Saponinen ähnlich ist, der Methylviolettlösung zugesetzt und seinen Einfluß auf die Ablagerung des Farbstoffes im Froschherzen beobachtet. Es handelt sich um ein Analogon für den Reagenzglasversuch, bei welchem an Tierkohle adsorbiertes Methylviolettlösung durch Saponinlösung wieder fortgewaschen wird (Frey(4)).

II. Versuchsanordnung

Nach Tötung des Frosches durch Dekapitieren und Zerstören des Rückenmarkes wurde in das freigelegte Herz durch den Vorhof eine doppelläufige Kanüle in den Ventrikel eingeführt, die Kammer aufgebunden und aus dem Frosch entfernt. So kam die Durchströmungsflüssigkeit nur mit der Ventrikelmuskulatur in Berührung. Die Kanüle wurde an zwei Mariottesche Flaschen angeschlossen; der Ventrikel konnte mittels eines Dreiweghahnes entweder mit Ringerlösung oder Farbstofflösung durchströmt werden.

Die Herzkammern arbeiteten auf elektrischen Reiz. Die Zahl der Kontraktionen war auf 32 pro Minute festgelegt. Folgende technische Einrichtung diente zur Reizung: Von einer elektrisch betriebenen Nockenwelle wurde ein Primärkreis geschlossen und geöffnet; dieselbe Nockenwelle blendete den Schließungsschlag durch Kurzschließen des sekundären Stromkreises ab und ließ nur den Öffnungsschlag zum Präparat. Eine Elektrode wurde an die Herzspitze angeklemmt, die andere bildete ein Stanniolstreifen, der in die Durchströmungsflüssigkeit hineinhing.

Die Ventrikel arbeiteten bei einem unveränderlichen Auslaufwiderstand, aus einer Kapillare bestehend, deren Länge so bemessen war, daß in 5 Minuten 7 bis 8 ccm abtropften. Die durchgeflossene Farbstofflösung wurde in Meßzylindern aufgefangen und nach je 5 Minuten der Farbstoffgehalt im Stufenphotometer nach Zeiss mit Filter S 57 kolorimetrisch bestimmt. Aus der Durchflußmenge und der Konzentrationsabnahme konnte die im Herzen zurückgehaltene Farbstoffmenge errechnet werden. Die Photometerwerte wurden durch eine Eichkurve festgelegt.

Als Farbstofflösungen wurden Konzentrationen von 0,00125 % und 0,000625 % Methylviolettlösung verwandt. Strophanthin gelangte in einer Konzentration von 0,05 mg % und 0,025 mg % zur Anwendung.

Die Versuche wurden an *Rana esculenta* in der Zeit vom 17. August bis 14. Dezember 1944 gemacht. Die Herzkammern wogen im Durchschnitt 44 mg. Alle Versuche wurden in einem dunklen Raum gemacht, um eine Zersetzung des Farbstoffes durch das Licht zu vermeiden. Außerdem wurde jedesmal die Ausgangslösung kolorimetriert.

III. Die Aufnahme von Methylviolett ohne Strophanthinzusatz

Bei der Durchströmung mit einer Farbstofflösung von 0,00125 % Methylviolett nehmen die Herzen eines Durchschnittsgewichtes von 44,9 mg im Durchschnitt 60,49 γ auf (12 Versuche). Verfolgen wir die Farbstoffretention während der einzelnen Zeitabschnitte, so sehen wir, daß in den ersten 5 Minuten die Farbstoffaufnahme am größten ist. Sie nimmt mit der Zeit immer mehr ab, bis sie schließlich nach 35 Minuten zum Ende kommt. Gleichzeitig steht das Herz in Mittelstellung still. Die Herzkammern reagieren nach maximaler Beladung nicht mehr auf elektrischen Reiz. Sie nehmen auch aus einer weiter angebotenen Lösung keinen Farbstoff mehr auf.

Die maximale Beladung der Herzkammern aus einer 0,000625prozentigen Farbstofflösung erfolgt in durchschnittlich 45 Minuten. Von 48,3 mg schweren Herzen werden im Durchschnitt 54,69 γ retiniert. (Durchschnittswerte von 10 Versuchen.) Auch hier stehen die Ventrikel in Mittelstellung still.

(Berechnen wir die Retention auf 1 mg Herzmuskel, so erhalten wir folgende Werte: Aus der 0,00125prozentigen Farbstofflösung werden 1,40 γ , aus der 0,000625prozentigen 1,14 γ Methylviolett aufgenommen.)

In den nachfolgenden Tabellen ist der zeitliche Ablauf der Retention aus der konzentrierten und verdünnten Methylviolettlösung aufzeichnet.

Zeitlicher Ablauf der Farbstoffretention

aus 0,00125 % Methylviolett:
(Durchschnitt von 12 Versuchen.)

Min.	Retention in γ
5	28,49
10	17,60
15	9,10
20	3,90
25	1,11
30	0,26
35	0,0
zus.	60,46

aus 0,000625 % Methylviolett:
(Durchschnitt von 10 Versuchen.)

Min.	Retention in γ
5	15,97
10	11,28
15	8,43
20	6,91
25	5,04
30	3,77
35	1,99
40	1,17
45	0,09
50	0,0
zus.	54,66

IV. Die Aufnahme von Methylviolett bei Strophanthinzusatz

Die Aufnahme des Methylvioletts durch den Ventrikel wird durch Zugabe von Strophanthin K (Handelspräparat Kombetin, Böhringer) beeinflusst. Die Strophanthinkonzentrationen waren so gewählt, daß sie keine Schädigung des Herzmuskels hervorriefen.

a) 0,05 mg% Strophanthin

Aus einer Farbstofflösung von 0,00125 % Methylviolett, der 0,05 mg % Strophanthin zugesetzt sind, nehmen Herzkammern eines Durchschnittsgewichtes von 44 mg 130,56 γ auf. (Durchschnittswerte von 6 Versuchen.) Nach 40 Minuten tritt Herzstillstand ein unter Ausbildung einer schwachen systolischen Kontraktur.

Aus einer schwächer konzentrierten Lösung von 0,000625 % Methylviolett werden bei 0,05 mg % Strophanthinzusatz von Ventrikeln, die ein Durchschnittsgewicht von 34 mg haben, 89,2 γ aufgenommen. (Durchschnittswerte von 5 Versuchen.) Die Beladung ist erst nach 50 Minuten beendet. Die Vergiftungserscheinungen treten später auf als bei der stärker konzentrierten Lösung. Die Kammern stehen in Mittelstellung still.

(Berechnen wir die Retention auf 1 mg Herzmuskel, so erhalten wir die folgenden Werte. Aus einer 0,00125prozentigen Farbstofflösung werden bei 0,05 mg % Strophanthinzusatz 2,96 γ Methylviolett, aus einer 0,000625prozentigen Farblösung werden 2,7 γ Methylviolett aufgenommen.)

Zeitlicher Verlauf der Farbstoffretention

aus 0,00125 % Methylviolett +
0,05 mg% Strophanthin (Durchschnitt von 6 Versuchen):

Min.	Retention in γ
5	34,2
10	25,4
15	19,8
20	18,2
25	16,1
30	13,04
35	3,46
40	0
zus.	130,20

aus 0,000625 % Methylviolett +
0,05 mg% Strophanthin (Durchschnitt von 4 Versuchen):

Min.	Retention in γ
5	16,75
10	14,5
15	11,85
20	11,6
25	7,1
30	7,4
35	6,4
40	4,68
45	3,9
50	0,8
55	0,8
60	0
zus.	85,78

b) 0,025 mg% Strophanthin

Durchströmen wir die Ventrikel mit einer Methylviolettlösung von 0,00125 %, der wir 0,025 mg% Strophanthin zugegeben haben, so nehmen Kammern eines Durchschnittsgewichtes von 44 mg 114,6 γ Methylviolett auf. (Durchschnitt von 6 Versuchen.)

Nach 45 Minuten ist die Beladung beendet. Die Kammern stehen in Mittelstellung still.

Aus einer Farbstofflösung von 0,000625 % Methylviolett und 0,025 mg% Strophanthin werden von Ventrikeln eines Durchschnittsgewichtes von 46 mg 98 γ aufgenommen. (Durchschnitt von 4 Versuchen.)

Nach 65 Minuten stehen die Herzkammern in Mittelstellung still. (Auf 1 mg Herzmuskel kommen aus stärker konzentrierter Lösung 2,60 γ Methylviolett, aus der verdünnteren von 0,000625 % kommen auf 1 mg Herzmuskel 2,13 γ .)

Zeitlicher Verlauf der Farbstoffretention

aus 0,00125 % Methylviolett +
0,025 mg% Strophanthin (Durchschnitt von 6 Versuchen):

Min.	Retention in γ
5	22,61
10	21,03
15	19,06
20	13,2
25	12,25
30	10,05
35	7,5
40	2,23
45	0
zus.	107,93

aus 0,000625 % Methylviolett +
0,025 mg% Strophanthin (Durchschnitt von 4 Versuchen):

Min.	Retention in γ
5	16,2
10	10,8
15	12,0
20	10,1
25	8,6
30	7,5
35	6,7
40	6,0
45	4,7
50	4,2
55	3,2
60	2,5
65	0,8
70	0
zus.	93,3

V. Vergleich der Farbstoffretention mit und ohne Strophanthin

In der folgenden Tabelle sind die bei der Durchströmung mit Methylviolettlösung gefundenen Durchschnittswerte der Farbstoffretention gegenübergestellt:

Gesamtmenge, die retiniert wurde:

Farbstoffgehalt	durchschnittl. Herzgewicht	ret. Farbmenge
0,00125 % Methylviolett	44,9 mg	60,49 γ
0,000625 % Methylviolett	48,3 mg	54,69 γ

Farbstoffgehalt	durchschnittl. Herzgewicht	ret. Farbmenge
mit 0,05 mg% Strophanthin:		
0,00125 % Methylviolett	44 mg	130,56 γ
0,000625 % Methylviolett	33 mg	89,2 γ
mit 0,025 mg% Strophanthin:		
0,00125 % Methylviolett	44 mg	114,6 γ
0,000625 % Methylviolett	46 mg	98 γ
Durchschnittswerte der Farbbretention auf 1 mg Herzmuskel berechnet:		
0,00125 % Methylviolett		1,40 γ
0,000625 % Methylviolett		1,14 γ
mit 0,05 mg% Strophanthin:		
0,00125 % Methylviolett		2,96 γ
0,000625 % Methylviolett		2,70 γ
mit 0,025 mg% Strophanthin:		
0,00125 % Methylviolett		2,60 γ
0,000625 % Methylviolett		2,13 γ

Bei Strophanthinzusatz, liegt die Farbstoffretention des Esculentenherzens um mehr als 100 % höher. Strophanthin verbessert die Aufnahmebedingungen für das Methylviolett.

VI. Versuchsübersicht und Ergebnis

Die Streuung der Einzelversuche geht aus der folgenden Übersicht über die Zeit bis zum Aufhören der Farbaufnahme, das Herzgewicht und die retinierte Farbmenge hervor.

Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer	Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer
Methylviolett 0,00125 %:				Methylviolett 0,000625 %:			
25	48	75,25	1,56	50	62	55,90	0,90
20	30	49,10	1,64	40	48	53,03	1,10
35	48	72,98	1,52	45	55	74,86	1,36
25	50	59,90	1,20	40	54	66,22	1,23
25	46	55,50	1,21	25	38	38,55	1,01
30	60	79,78	1,33	35	48	57,47	1,20
20	49	59,20	1,21	35	48	51,50	1,07
25	48	56,91	1,18	45	54	70,94	1,31
15	24	35,11	1,46	25	28	20,41	0,73
25	38	60,65	1,59	45	48	58,21	1,21
20	48	62,25	1,29	Durchschnitt:			
20	50	59,31	1,18	38,5	48	54,7	1,14
Durchschnitt:							
24	45	60,49	1,40				

Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer	Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer
Methylviolett 0,00125 % + Strophanthin 0,05 mg%:				Methylviolett 0,000625 % + Strophanthin 0,05 mg%:			
40	50	157,40	3,15	50	30	88,18	2,94
40	42	114,24	2,72	55	44	93,80	2,13
40	37	115,67	3,13	40	33	64,30	1,94
40	48	126,65	2,63	50	28	79,70	2,85
35	44	142,68	3,24	55	32	120,16	3,75
35	44	126,38	2,88	Durchschnitt:			
Durchschnitt:				50	33	89,2	2,70
38	44	130,5	2,96				

Methylviolett 0,00125 % + Strophanthin 0,025 mg%:				Methylviolett 0,000625 % + Strophanthin 0,025 mg%:			
40	48	111,5	2,32	50	40	73,7	1,84
40	48	120,6	2,51	75	76	139,2	1,83
45	42	100,8	2,40	60	32	81,9	2,56
50	64	132,7	2,07	70	38	97,08	2,55
40	28	93,8	3,28	Durchschnitt:			
40	32	128,4	4,01	66	46	98	2,13
Durchschnitt:							
43	44	114,6	2,60				

Es wird aus einer konzentrierten Lösung mehr Methylviolett als aus einer verdünnten in der Herzkammer von *R. esculenta* aufgenommen, und es geht die Aufnahme schneller vor sich. Strophanthinzusatz vermehrt die Farbaufnahme auf mehr als das Doppelte. Die Aufnahme ist vom Herzgewicht abhängig.

II. TEIL

Die Wirkung von Strophanthin K auf die Farbstoffaufnahme des Frosches im Durchströmungsversuch

Es hat sich also eine Förderung der Farbaufnahme von der Herzinnenhaut aus durch Strophanthin gezeigt. — Dies findet ein Analogon in der resorptionsfördernden Wirkung der Saponine an anderen Membranen: Die Froshaut wird durch Saponin für Adrenalin durchgängig (Jakoby (5)), der Magendarmkanal resorbiert Kurare besser (Kofler und Fischer (6)), die Resorption von Traubenzucker wird beschleunigt (Lasch und Brügel (7)), ebenso die von Kalzium (Berger, Topper und Rischer (8)) und von Insulin (Lasch und Brügel (9)), was freilich für Zucker (Petschacher und Nageeb (10)), für Insulin (Dingemanse und Laqueur (11)) und für Kalzium (Sternasty und Felicelli (12)) nicht bestätigt wurde. Auch die menschliche Haut wird nach Milbradt (13) nach Saponin durchgängiger. — Nun hat Frey (14) gefunden, daß bei der Durchströmung eines Frosches von der Aorta aus die Retention von Farbstoff, auch von Methylviolett, durch Zusatz von Saponinen gehemmt wird, es findet also an der Kapillarwand das Gegenteil statt wie an der Herzinnenhaut, wenn man einmal die Wirkung von Strophanthin und Saponin in Vergleich zieht: an der Kapillarwand keine Förderung der Farbaufnahme. Dabei geht Flüssigkeit in vermehrtem Maße aus den Gefäßen in die Gewebe, das Ödem, das sich immer beim Durchströmen mit kolloidfrier Flüssigkeit einstellt, wird durch Saponinzusatz vermehrt; nur eben die Farbaufnahme wird gehemmt. Es erhob sich also die Frage, wie sich Strophanthin an der Kapillarwand verhält, aufnahmebegünstigend wie am Herzen oder hemmend wie die Saponine.

I. Versuchsanordnung

Ich habe daher die Frösche nach Zerstören von Gehirn und Rückenmark von der Aorta aus bei angeschnittenen Vorhöfen mit Ringerscher Flüssigkeit durchströmt, das Gewicht des Frosches, der auf einer Briefwaage lag, alle 5' bestimmt, um die Zunahme des Ödems festzustellen, den Durchlauf ebenfalls alle 5' gemessen und die ausgeflossene Flüssigkeit kolorimetriert. So kann man wie oben die Retention des Methylvioletts berechnen. Im einzelnen wurde so vorgegangen, daß der Frosch erst 10' blutfrei gespült wurde, dann auf die Farbstofflösung durch einen Dreiweghahn umgeschaltet wurde und der Durchfluß 20' beobachtet wurde; darauf wurde die Farbaufnahme wieder 20' lang nach Saponinzusatz bemessen und zum Schluß wieder 20' lang mit reiner Farblösung ohne Strophanthin durchströmt. Es wurden je vier Versuche angestellt mit verschiedenen

Methylviolettkonzentrationen und mit wechselnden Strophanthinzusätzen. Vor dem Kolorimetrieren wurde die Flüssigkeit zentrifugiert.

II. Versuche

Durchschnittswerte aus je vier Versuchen mit Methylviolett 0,00125 % allein oder mit Strophanthinzusatz von 0,000025 % und 0,00005 % bei der Durchströmung eines Frosches von der Aorta aus; Ablesungen alle 5'; in der mittleren Periode von 20' unter Strophanthinzusatz.

Ödem g.	Durchfluß ccm	Retiniert mg	Frosch g	
2,5	29	0,3253	37,2	Methylviolett allein
1,0	30	0,3307		
1,0	31	0,3263		
1,0	30	0,3189		
0,8	32	0,3146		
0,5	33	0,3231		
0,2	31	0,2978		
0,2	28	0,3024		
0,8	28	0,2658		
1,0	28	0,2844		
0,5	28	0,2468		
0,5	27	0,2459		
0,5	32	0,3107	43	Methylviolett + Strophanthin 0,000025%
1,5	30	0,2643		
0,2	28	0,2323		
1,0	30	0,2228		
0,2	29	0,2355		
0,5	29	0,2114		
0,2	30	0,2038		
0,7	30	0,2068		
0,5	30	0,1898		
0,2	31	0,2067		
0,7	31	0,1898		
0	32	0,2098		
0,7	26	0,3021	41	Methylviolett + Strophanthin 0,00005%
2,2	27	0,2918		
1,2	28	0,2923		
1,0	28	0,2819		
0,7	28	0,2411		
1,5	28	0,2377		
0,7	28	0,2294		
0,7	29	0,2282		
0,7	28	0,1965		
0,5	28	0,1882		
0,7	27	0,1606		
0,5	28	0,1698		

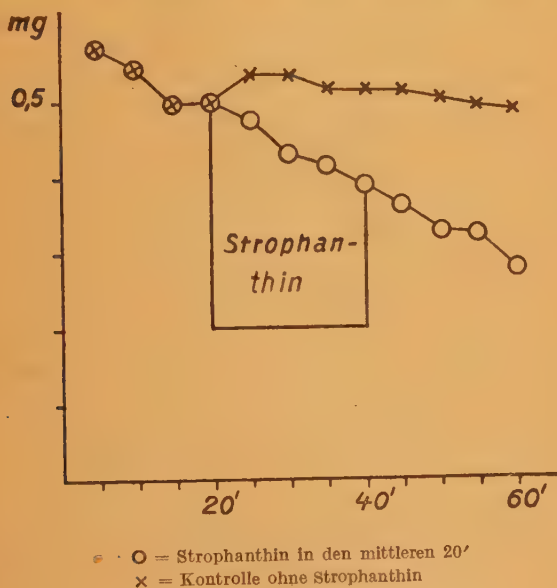
Durchschnittswerte aus je vier Versuchen mit Methylviolett 0,0025 % allein oder mit Strophanthinzusatz von 0,000025 % und 0,00005 Prozent bei der Durchströmung eines Frosches von der Aorta aus; Ablesungen alle 5'; in der mittleren Periode von 20' unter Strophanthinzusatz.

Ödem g	Durchfluß ccm	Retiniert mg	Frosch g	
1,0	37	0,5550		Methylviolett allein
2,0	35	0,5500		
2,0	35	0,5450		
1,0	34	0,5425		
1,0	34	0,5375		
0,5	33	0,5350		
0,5	33	0,5275		
0,5	31	0,5225		
0	28	0,5225		
0	28	0,5100		
0	27	0,5025		
0	26	0,4975		
2,0	25	0,5221	42,5	Methylviolett + Strophanthin 0,000025%
1,5	27	0,6211		
1,2	29	0,5113		
0,7	31	0,4974		
0,5	30	0,4654		
0,7	31	0,4267		
0,5	32	0,3890		
0,2	32	0,3654		
1,0	33	0,3248		
0	33	0,2740		
0,2	31	0,2606		
0,2	27	0,1921		
1,0	29	0,5979	43	Methylviolett + Strophanthin 0,00005%
0,7	30	0,4955		
0,5	26	0,4679		
1,0	28	0,4875		
0,5	32	0,4967		
0,7	32	0,4442		
0,2	31	0,4397		
1,0	32	0,4144		
0,5	32	0,4334		
1,0	32	0,4057		
0,7	31	0,4174		
0,5	28	0,3529		

Man ersieht daraus, daß in allen Versuchsreihen das Ödem allmählich zunimmt, aber ständig langsamer, ebenso wird der Durchfluß allmählich

geringer, aber beides ganz unwesentlich, und daß Strophanthinzusatz in verschiedenen Konzentrationen darauf keinen Einfluß hat, und zwar weder in der verdünnten noch in der konzentrierten Methylviolettlösung. Dagegen sinkt gegenüber den Kontrollen die vom Frosch retinierte Farbmenge deutlich ab, und zwar in allen Versuchen, ganz gleich, ob Methylviolett in konzentrierter oder verdünnter Lösung vorliegt, oder ob man Strophanthin in geringer oder starker Konzentration zusetzt. Die folgende Kurve zeigt die Durchschnittswerte, einmal für Methylviolett 0,0025 % ohne Zusatz, dann die Werte mit Strophanthin, und zwar beide Konzentrationen zusammengezogen. Die Versuche mit der dünneren Lösung von Methylviolett fielen — wie die Tabellen lehren — ebenso aus. Es ergibt sich also am ganzen Frosch eine Herabsetzung der Retention im Sinne einer Abdrängung des Farbstoffes von der Oberfläche, d. h. eine Art Waschwirkung. Eine solche stellte Frey (14) ebenfalls am ganzen Frosch für Saponin, alb. puriss. (Merck) und Digitonin gegenüber Methylviolett und Eosin fest, wo die Saponine die Farbaufnahme außerordentlich beschränken; der Flüssigkeitsdurchtritt durch die Kapillarwand war dabei im Sinne der Ödembildung vermehrt gegenüber den Kontrollen; hierbei zeigte sich also eine Permeabilitätssteigerung.

Retention von Methylviolett beim durchströmten Frosch



III. TEIL

Methylvioletttaufnahme durch das Temporarienherz bei Saponin- und Strophanthinzusatz

I. Konzentrierte Methylviolettlösung

Es hat sich also Strophanthin als ein die Farbaufnahme fördernder Stoff erwiesen, dagegen am Kapillarsystem des Frosches sich wie Saponin verhalten. Es fragt sich nun, ob bei der Herzwirkung ein spezifischer Einfluß vorliegt oder ob auch hier der Strophanthineinfluß unter die Gruppenwirkung der Saponine fällt, d. h. ob auch die Saponine am Herzen so wie Strophanthin wirken, entgegengesetzt ihrer Kapillarwirkung. Daher habe ich den Einfluß der Saponine auf die Methylvioletttaufnahme des Froschherzens an *Rana temporaria* untersucht. Angefügt wurden diesen Versuchen auch solche mit Strophanthin, um auch am Temporarienherzen seine Wirkung festzustellen.

Farbaufnahme aus einer 0,00125prozentigen Methylviolettlösung
(*R. temporaria*)

Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer	Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer
Methylviolett 0,00125 % allein:				+ Strophanthin 0,05 mg $\frac{0}{0}$:			
25	56	183,5	3,28	35	65	245,9	3,78
35	86	240,5	2,79	20	26	95,3	3,66
30	82	268,5	3,27	35	46	292,2	6,35
30	88	319,6	3,63	35	64	285,2	4,46
35	108	305,4	2,75	35	24	169,1	7,04
30	57	350,8	6,16	35	52	193,6	3,72
30	50	232,1	4,64	40	51	328,8	6,44
25	45	168,8	3,75	40	64	311,8	4,87
Durchschnitt:				Durchschnitt:			
30	71,5	258,7	3,62	34	49	240,2	4,90
+ Saponin. alb. puriss. 0,0035 %:				+ Digitonin 0,0007 %:			
25	62	83,2	1,34	50	85	279,7	3,29
30	128	250,8	1,18	25	58	70,8	1,22
55	85	121,6	1,43	35	77	142,8	1,85
40	98	226,0	2,31	25	58	141,2	2,43
25	106	145,7	1,37	30	83	189,3	2,28
20	60	137,0	2,28	30	52	95,1	1,83
25	88	153,4	1,74	40	103	260,1	2,52
20	106	140,4	1,32	40	66	174,9	2,63
30	120	181,4	1,51				
Durchschnitt:				Durchschnitt:			
30	95	160	1,68	34	72,8	169,2	2,32

Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer
+ Saponin. alb. puriss. 0,0007 %:			
35	52	230,6	4,43
20	37	106,3	2,88
25	53	184,0	3,47
15	31	70,6	2,27
25	45	164,1	3,64
25	28	168,0	6,00
25	30	275,3	9,18
25	33	163,0	4,94
Durchschnitt:			
24	39	170,2	4,36

Es wurde zuerst eine 0,00125prozentige Methylviolettlösung angewandt und zunächst wiederum die Farbaufnahme ohne Zusatz untersucht, weil sich herausstellte, daß die Farbstoffretention bei den jetzt nur zur Verfügung stehenden Temporarien sich anders verhält als bei den früher verwandten Esculenten. Aber auch sonst ist es ratsam, mit jedem neuen Froschmaterial wieder Kontrollen anzustellen, weil die Jahreszeit, die Temperatur eine andere sein kann. Dabei zeigte sich, daß die Farbaufnahme der Temporarien sehr viel stärker war als früher die der Esculenten. Saponin beeinträchtigt hier am Herzen die Farbaufnahme wie am Kapillarsystem. Da die Herzen zur Zeit, wo die Farbaufnahme beendet war, schlecht oder kaum mehr schlugen, wurde die Saponinkonzentration auf den fünften Teil herabgesetzt: es war wohl immer noch eine geringe Beschränkung der Farbaufnahme vorhanden, die retinierten Mengen sind deutlich kleiner als die der Kontrollen, aber die pro mg Kammer retinierten Mengen sind größer als ohne Saponin.

Bei der Beobachtung der Farbaufnahme der Temporaria-Hezen unter Strophanthin war der Einfluß dieses Mittels keineswegs so deutlich wie früher an den Esculenten-Hezen. Man kann eine Förderung der Farbaufnahme kaum aus den Versuchsergebnissen herauslesen, die retinierten γ sind — bei allerdings sehr kleinen Herzen — fast so groß wie bei den Kontrollen, die pro mg Kammer zurückbleibende Menge des Farbstoffes ist etwas größer. Man geht wohl nicht fehl, wenn man bei dieser Methylviolett-konzentration und diesen Dosen von Strophanthin bei Temporarien einen deutlichen Einfluß des Strophanthins ablehnt.

Da die Farbaufnahme bei den Temporaria-Hezen aus einer 0,00125-prozentigen Methylviolettlösung so groß war und vielleicht eine Zunahme dieser Speicherung gar nicht mehr zuließ, wurde die Konzentration der Farblösung auf die Hälfte herabgesetzt und die Versuche mit Saponin und Strophanthin wiederholt.

II. Verdünnte Methylviolettlösungen

Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer	Min., bis Aufnahme = 0 wird	Kammer mg	Retinierte Farbe in γ	γ Farbe je mg Kammer
Methylviolett 0,000625 % allein:				Methylviolett 0,000625 % allein:			
55	53	162,2	3,06	50	72	60,5	0,83
45	72	80,6	1,12	45	58	38,2	0,66
65	75	217,1	2,90	70	142	198,2	1,40
70	88	216,9	1,46	45	50	52,3	1,05
65	80	160,9	2,01	50	62	81,3	1,31
50	55	112,6	2,05	50	97	121,2	1,24
50	72	89,8	1,24	55	77	98,3	1,27
65	86	227,9	2,65	55	62	76,7	1,22
Durchschnitt:				Durchschnitt:			
58	75	159,6	2,01	52	78	90,8	1,16
+ Saponin. alb. puriss. 0,0007 %:				+ Strophanthin 0,025 mg%:			
60	100	188,7	1,89	60	102	151,6	1,48
45	97	145,7	1,50	40	88	144,1	1,64
55	83	110,8	1,33	45	94	135,2	1,44
45	78	136,7	1,71	60	118	180,3	1,53
50	60	116,2	1,93	35	44	88,2	2,00
45	67	128,8	1,92	40	90	113,8	1,26
50	78	119,4	1,53	35	90	64,5	0,72
50	108	196,8	1,82	40	64	104,2	1,63
Durchschnitt:				Durchschnitt:			
50	84	142,9	1,70	44	86	122,7	1,44
+ Digitonin 0,000035 %: *)				+ Strophanthin 0,0025 %:			
90	88	206,6	2,35	70	81	124,7	1,54
85	112	212,8	1,90	110	80	270,6	3,38
65	63	141,6	2,25	100	113	257,6	2,28
70	85	154,5	1,82	50	59	139,6	2,37
60	104	141,3	1,36	70	83	162,3	1,96
80	105	165,9	1,58	60	66	137,6	2,08
85	114	225,4	1,98	50	53	127,9	2,41
70	82	148,1	1,81	60	100	157,8	1,58
Durchschnitt:				Durchschnitt:			
75	94	174,5	1,86	70	80	186,0	2,33

*) gehört zeitlich zur rechten Reihe.

Auch in verdünnten Methylviolettlösungen wurde zunächst (in der Tabelle links) eine Förderung der Farbaufnahme durch Strophanthin nicht gefunden, eher eine geringe Herabsetzung. — 122,7 γ gegen 159,6 γ der Kontrollen (1,44 γ pro mg Kammer gegen 2,01 γ der Kontrollen); also das gleiche Verhalten wie nach Saponin — 142,9 γ gegen 159,6 γ

der Kontrollen (170 γ pro mg Kammer gegen 2,01 γ pro mg Kammer bei den Kontrollen).

Da sich herausstellte, daß die Aufnahme der Herzen für Farbstoff wechselte, obwohl die Versuchsreihen untereinander ganz gut stimmten (wie die angegebenen Zahlen beweisen), wurden zum Schluß der Reihen nochmals Kontrollen angestellt, welche rechts oben in der Tabelle angeführt sind. Ferner schien die Konzentration des Digitonins zu hoch zu sein und die Herzleistung zu schädigen; daher wurde die Konzentration des Digitonins herabgesetzt. Ebenso wurde die Strophanthinkonzentration zehnfach verringert, da die Temporaria-Hezen sehr viel empfindlicher zu sein scheinen als die Esculenten-Hezen, obwohl die Versuche zur selben Jahreszeit, Anfang des Winters (nur mit einem Jahr Pause) angestellt wurden.

Und in der Tat zeigt sich in der zweiten Reihe der Versuche (rechts) eine Förderung der Farbaufnahme auch am Temporaria-Hezen durch geringe Strophanthindosen — 186,0 γ gegen 90,8 γ bei den Kontrollen (pro mg Kammer 2,33 γ gegen 1,16 γ), wenn man die Farbaufnahme der gleichzeitig angestellten Kontrollen der Beurteilung zugrunde legt. Das gleiche beobachtet man bei Digitonin, d. h. eine Förderung der Retention von Farbstoff — 174,5 γ gegen 90,8 γ bei den Kontrollen (pro mg Kammer 1,86 gegen 1,16 γ). Es verhalten sich also die Temporaria-Hezen wie die der Esculenten, nur sind sie sehr viel giftempfindlicher.

Es wirken also die Saponine und das Strophanthin gleichartig auf das Kapillarsystem des Frosches — und zwar hemmend auf die Farbaufnahme, gleichartig aber auch am Hezen — nämlich fördernd auf die Farbretention; man muß nur bei Temporarien die Konzentration herabsetzen. In höheren Konzentrationen wird die Farbaufnahme gehemmt, geradeso wie vom Kapillarsystem aus.

IV. TEIL

I. Besprechung

Die Membrandurchlässigkeit und die Adsorptionsvorgänge sind die beiden physikalischen Angriffspunkte für die Saponine und für das Strophanthin. Dazu könnte noch eine chemische Bindung an Cholesterin treten, welche die Permeabilitätsänderung vielleicht ursächlich hervorruft, aber auch für andersartige Wirkungen verantwortlich zu machen ist. Auf ihr beruht sicherlich die hämolytische Wirkung auf die roten Blutkörperchen, wird sie doch durch Cholesterin aufgehoben. Für diese Beeinflussung des Cholesterinanteils der Plasmahaut spricht das Verhalten der Empfindlichkeit der verschiedenen Blutarten, welche gegenüber Saponin und Hypotonie gerade reziprok ist (Rywowich (15)). Auch der Einfluß auf die Sexualhormone (Röcker (16), Frey und Ackermann (17)) kommt wohl auf dem Wege über das Cholesterin zustande, da Cholesterin den nach Saponin eingestellten Östrus der weißen Maus wieder zum Vorschein bringt. Ebenfalls ist wohl die Cholesterinwirkung der Saponine der Grund für die Beeinflussung der Vigantolverkalkung (Lambrecht (18)). Hier aber, bei unseren Versuchen, wird man eher an die Wirkung auf die Grenzflächen denken, die freilich, wie oben angedeutet, auch auf dem Umwege über das Cholesterin zustande kommen kann. Und in dieser Hinsicht liegt schon einiges Beobachtungsmaterial vor. Aus den Arbeiten von Cook (19) geht hervor, daß Methylenblau gegen Acetylcholin geradeso antagonistisch wirkt wie Atropin; und zwar handelt es sich um eine reversible Oberflächenwirkung, unabhängig von der Farbe des Zellinnern; diese letztere hat mit der Wirkung des Methylenblaus nichts zu tun. Wenn man das Herz, nachdem es sich dunkel gefärbt hat, wäscht, so bleibt die Farbe bestehen, aber die Wirkung ist sofort auswaschbar: es tritt auch bei tiefblauem Herzen nach Waschen die Acetylcholinwirkung wieder ein. Auch Frey (14) führt die Gegenwirkung von Atropin gegen Acetylcholin auf eine Grenzflächenwirkung zurück, weil die Oberflächenspannung einer Alkaloidlösung durch Zusatz eines zweiten Alkaloids stark beeinflußt werden kann. Freilich hat sich dabei an den Modellflüssigkeiten (Wasser gegen Paraffin mit Lezithin oder gegen Paraffin mit Ölsäure) ein spezifischer Antagonismus nicht gezeigt. — Dabei verhalten sich auch feste Adsorbentien gegenüber den gleichen Stoffen ganz verschieden. Pusch (20) ließ Digitalin und Strophanthin an Aluminiumhydroxyd, Eisenhydroxyd und Kaolin adsorbieren und fand eine sehr verschiedene Adsorption. Verschieden verhielt sich auch der Zusatz von Serum, teils abschwächend, teils verstärkend. Ebenso unterschiedlich verhielten sich auch die Bindungen der Digitalisstoffe an Eiweiß oder Cholesterin-Lezithin (Hoek-

stra (21)); und einige Zusätze können das Eindringungsvermögen der Digitalisstoffe stark verändern: Brillantkongorot und Digitoxin dringen in wässriger Lösung in Gelatine nicht ein, wohl aber aus Bauchhöhlenflüssigkeit, andere Digitalisstoffe permeieren auch dann nicht; die Digitoxinwirkung wird durch artfremdes Eiweiß aufgehoben, durch art-eigenes nicht (Hoekstra (22)). Es beeinflussen also die Stoffe in Kombination einander in der verschiedensten Weise, und ihr Verhalten gegenüber einem dritten Körper, Adsorbens oder Membran usw., ist durchaus nicht vorauszusehen.

Eine weitere Unsicherheit bringt die Unkenntnis der Konzentrationen an den Stellen der Wirkung. Frey (14) vermutete, daß sich zwei oberflächenaktive Stoffe, die sich an der Grenzfläche anreichern, entweder dort verdrängen oder sich nebeneinander lagern werden. Das erstere wird in konzentrierten Lösungen der Fall sein, wo der wirksamere einen Teil des unwirksameren verdrängen wird; dann liegt die Zahl der Tropfen der Volumenseinheit als Maß für die Oberflächenspannungserniedrigung zwischen den Tropfenzahlen der beiden Einzellösungen. Hat man es aber mit verdünnten Lösungen zu tun, so kann der zweite Stoff in die Lücken des ersten treten; dann werden sich beide Stoffe an der Oberflächenspannungserniedrigung beteiligen, und die Tropfenzahl ist größer als die jeder einzelnen Lösung. Frey untersuchte die Kombination von Sapon. alb. puriss. (Merck) und Guajaksaponin und fand diese Vermutung bestätigt.

Tropfenzahl von 10 cem einer wäßrigen Saponinlösung in Phosphatpuffer, die vorher mit Paraffin aa geschüttelt wurde, nach dem Absetzen in dies Paraffin getropft (oder in Luft getropft):

	gegen Paraffin:	gegen Luft:
Phosphatpuffer allein	10,85 (= 100 %)	76,76 (= 100 %)
Sapon. alb. pur. (Merck) 0,35 %	16,66 (= 153,5 %)	94,26 (= 122,8 %)
Guajak-Saponin 0,35 %	31,42 (= 289,6 %)	113,94 (= 148,4 %)
Zusammen, je 0,35 %	27,35 (= 252,1 %)	113,31 (= 147,6 %)
Sapon. alb. pur. (Merck) 0,035 %	16,29 (= 150,1 %)	86,88 (= 113,2 %)
Guajak-Saponin 0,035 %	26,06 (= 240,5 %)	108,08 (= 140,8 %)
Zusammen, je 0,035 %	27,04 (= 249,2 %)	105,18 (= 136,0 %)
Sapon. alb. pur. (Merck) 0,0035 %	15,65 (= 144,2 %)	78,60 (= 102,3 %)
Guajak-Saponin 0,0035 %	15,98 (= 147,3 %)	76,90 (= 100,2 %)
Zusammen, je 0,0035 %	18,39 (= 169,5 %)	83,49 (= 108,7 %)

Diese gegenteilige Wirkung zweier oberflächenaktiver Stoffe auf die Oberflächenspannung je nach der Konzentration finden wir bei unseren Versuchen am Froschherzen und am ganzen Frosch wieder, wenn wir

den Einfluß von Saponin und Strophanthin auf die Farbaufnahme betrachten. Denn Methylviolett ist ebenfalls ein stark oberflächenaktiver Stoff, welcher an den Grenzflächen angereichert wird wie die Saponine oder das Strophanthin. Dies war auch der Grund, weswegen ich sowohl die Konzentration des Methylvioletts wie auch die des Strophanthins variierte. Grundsätzlich ist bedeutungsvoll, daß die Konzentration eines Stoffes so wichtig beim Zustandekommen eines Einflusses sein kann.

Ebenso gehört der auffällige Befund von Yamaka und Araki (23) hierher, die Färbung von *Spyrogyra*-Zellen betreffend: Behandelt man *Spyrogyren* mit Saponin und färbt sie mit Neutralrot, Eosin und Rhodanin B, so wird die Färbung verstärkt; werden aber Saponin und Farbstoff gleichzeitig den Zellen geboten, so ist die Farbaufnahme stark gehemmt. Vielleicht ist dies der Ausdruck für die zwei Eigenschaften der Saponine, die Permeabilitätsvermehrung und die Verdrängung, die sich hier an demselben Objekt, nur bei verschiedener Versuchsanordnung zeigen, etwa so, wie Saponin den Durchtritt von Flüssigkeit durch die Kapillarwand förderte, dabei die Färbung der Gewebe einschränkte.

Wir haben es also in unseren Versuchen mit den beiden Einflüssen der Saponine und des Strophanthins zu tun, einmal mit der permeabilitätssteigernden Wirkung an Membranen, das andere Mal mit einer Art Waschwirkung durch Verdrängung aus der Grenzfläche. Die erste Wirkung besitzen die Stoffe in großer Verdünnung, die zweite in höherer Konzentration. (Diese mit der Konzentration wechselnden Befunde erklären vielleicht auch die Widersprüche in der Literatur bei der Frage nach der Resorptionssteigerung durch Saponin.)

II. Zusammenfassung

In einer ersten Versuchsreihe wurde gefunden, daß Strophanthinzusatz zu einer Methylviolettlösung, die die Kammer von *R. esculenta* bei elektrischer Reizung des Ventrikels durchströmte, die Aufnahme des Farbstoffes stark förderte, etwa auf das Doppelte steigerte. Nun war bei der Durchströmung des ganzen Frosches von der Aorta aus von Frey gefunden worden, daß die Saponine die Farbaufnahme vom Kapillarsystem aus hemmen, obwohl sie den Flüssigkeitsdurchtritt steigern. Bei der chemischen Ähnlichkeit des Strophanthins mit einigen Saponinen war dies der Anlaß, die Versuche nach zwei Richtungen zu ergänzen: erstens wurde nachgesehen, wie sich Strophanthin im Durchströmungsversuch am ganzen Frosch verhält, und dann wurde beobachtet, wie die Saponine am Froschherzen die Farbaufnahme beeinflussen. — Am durchströmten Frosch hemmte Strophanthin die Farbaufnahme — geradeso wie die Saponine; am Froschherzen beförderten

die Saponine die Farbaufnahme — wie Strophanthin. Nur muß man dabei die Konzentration der Saponine und des Strophanthins stark herabsetzen, sonst hemmen sie die Farbaufnahme; dabei stellte sich heraus, daß die Temporaria-Herzen sehr viel giftempfindlicher sind als die Esculenten-Herzen.

Es treten also zwei gegensätzliche Beobachtungen auf: Hemmung der Farbaufnahme am Temporaria-Herzen bei stärkerer Konzentration an Saponin oder Strophanthin — Förderung der Farbaufnahme bei niedriger Konzentration. Es findet dies ein Gegenstück im Verhalten der Kombination zweier oberflächenaktiver Substanzen, wo in niedriger Konzentration beide Stoffe sich in der Herabsetzung der Oberflächenspannung unterstützen, in höherer sich gegenseitig beeinträchtigen. Dies liegt nach Frey daran, daß in konzentrierten Lösungen sich die Stoffe aus der Grenzfläche verdrängen, in niedriger Konzentration sich der eine Stoff in die Lücken des anderen legt, die dieser bei der Besetzung der Oberfläche frei läßt, und so die Wirkung des ersten unterstützt.

Wir haben also die beiden Wirkungen der Saponine und des Strophanthins nebeneinander vor uns: die permeabilitätssteigernde Wirkung und die Waschwirkung durch Abdrängen anderer Stoffe aus der Oberfläche; letztere Wirkung kommt nur konzentrierteren Lösungen zu.

Herrn Professor Dr. Ernst Frey möchte ich an dieser Stelle noch einmal meinen herzlichsten Dank für die Überlassung des Themas und die stets fördernde Unterstützung meiner Arbeit aussprechen.

Schrifttum

1. H. Fühner, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 59, 161, 1908
2. H. Fühner, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 69, 29, 1912
3. Tschesche, Erg. Physiol. 38, 65, 1936
4. E. Frey, Verh. Dtsch. Pharmakol. Ges. 1928
5. Jakoby, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 88, 333, 1920
6. Kofler und Fischer, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 141, 104, 1929
7. Lasch und Bürgel, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 116, 7, 1926
8. Berger, Topper und Rischer, Klin. Wschr. 5, 2394, 1926
9. Lasch und Bürgel, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 120, 145, 1926
10. Petschacher und Nageeb, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 139, 32, 1928
11. Dingemanse und Laqueur, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 126, 31, 1927
12. Sternasty and Felicelli, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 29, 1101, 1932,
— Ber. Physiol. 70, 111, 1932
13. Milbradt, Z. exper. Med. 87, 745, 1933. — Ber. Physiol. 74, 755, 1933
14. E. Frey, noch nicht veröffentlicht
15. Rywosch, Ztrbl. Physiol. 25, 848, 1911
16. Röcker, Diss. Göttingen 1937
17. Frey und Ackermann, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 188, 593, 1938
18. Lambrecht, Diss. Göttingen 1937
19. Cook, J. Physiol. 62, 160, 1926. — Ber. Physiol. 40, 156, 1927
20. Pusch, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 177, 564, 1934
21. Hoekstra, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 162, 649, 1931
22. Hoekstra, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 162, 663, 1931
23. Yamaha und Araki, Sci. Rep. Tokyo Bunrika Daigaku. B. 4, 129, 1939. — Ber. Physiol. 118, 554, 1940

L E B E N S L A U F

Am 4. Juni 1923 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Wilhelm Schneider und seiner Ehefrau Anna geb. Hamelmann in Künsebeck, Westfalen, geboren. Von 1929 bis 1933 besuchte ich die Volksschule in Steinhagen. Anschließend kam ich auf die Cecilien-schule, Oberschule für Mädchen, in Bielefeld und legte dort im März 1941 meine Reifeprüfung ab. Von April 1941 bis Januar 1942 genügte ich meiner Arbeitsdienstpflicht. Nach drei Monaten Krankenpflagedienst im Kreiskrankenhaus Halle in Westfalen und im Krankenhaus Gilead in Bethel begann ich mein medizinisches Studium im April 1942 in Göttingen. Dort bestand ich 1944 die medizinische Vorprüfung. Im folgenden Sommersemester begann ich meine Doktorarbeit am Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen. Im Wintersemester 1945/46 konnte ich meine Arbeit beenden. Ich stehe jetzt im achten Fachsemester.

LANE MEDICAL LIBRARY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF. 94304